



Title	ヒト deoxyribonuclease I 測定のための radioimmunoassay 系の確立と各種癌患者における血中 deoxyribonuclease I 量
Author(s)	宮内, 啓輔
Citation	大阪大学, 1990, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36803
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	宮	内	啓	輔
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	8960	号	
学位授与の日付	平成2年2月2日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	ヒト deoxyribonuclease I 測定のための radioimmunoassay 系の確立と各種癌患者における血中 deoxyribonuclease I 量			
論文審査委員	(主査) 教授 森 武貞			
	(副査) 教授 谷口 直之 教授 宮井 潔			

論文内容の要旨

(目的)

血中の deoxyribonuclease I (DNase I) は、従来酵素活性でのみ測定されており、癌患者において低値をとるとされているが、一方では乳癌や口腔癌あるいは泌尿生殖器癌で高値をとったとの報告もある。血中には DNase I の inhibitor が存在することが知られており、酵素活性の測定値は実際の DNase I 量を正確に反映していない可能性が考えられる。

本研究では、まず DNase I の radioimmunoassay 系 (RIA 系) を確立し、血中 DNase I 量を蛋白量で測定する方法を開発した。そして、これを用いて各種癌患者の血中 DNase I 量を測定し、それを従来の酵素活性と対比し、癌患者における血中 DNase I 測定の診断的意義を明らかにしようと試みた。

(方法ならびに成績)

1. DNase I の RIA 系の確立

健常人の尿より精製した DNase I を抗原として家兎より抗体を作製した。標識抗原は ^{125}I を用い、クロラミン T 法にて作製した。RIA の手順は試料と抗血清を $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ にて 24 時間 incubate し、その後標識抗原を加えた delayed addition を行った。B/F 分離は二抗体法を用いた。標準曲線における 90% B/B₀ は 9.5ng/ml であった。ヒト尿および臍液の希釈曲線は良好な用量反応曲線を示した。ウシ臍 DNase I やウシ脾 DNase II とは交差活性を認めなかった。また、モルモット、牛、馬、犬、猫の血清とも交差活性を認めなかった。測定内変動及び測定間変動の CV 値はそれぞれ 7.2%，13% とほぼ満足すべき値であった。回収率も 91~108% であった。

2. G-actin の影響

DNase I の inhibitor として知られる G-actin の添加により、DNase I の酵素活性は約70%阻害され、一方免疫活性はまったく阻害されなかった。

3. 正常人の血中 DNase I 量

11才より90才までの健常人102人における血中 DNase I 量は、 $18.4 \pm 6.7 \text{ ng/ml}$ (mean \pm S. D.) であった。

4. 各種癌患者における血中 DNase I 量

健常人の DNase I 値の mean \pm 2 S. D. すなわち 31.8 ng/ml を cut off 値とすると、癌以外の患者では腎不全、急性脾炎を除き全員が正常範囲内であった。腎不全患者の69%、急性脾炎患者の36%が高値を示していた。食道・胃・大腸・肝・脾・乳腺・甲状腺の癌患者では32%に高値がみられた。臓器別に DNase I 値に差を認めなかった。

5. 各種癌患者における血中 DNase I の免疫活性と酵素活性

^{32}P でラベルした *E. coli* の DNA を基質とし、酸可溶分画の ^{32}P を count して血中 DNase I の酵素活性を測定した。この測定値を精製 DNase I の比活性を用いて U/ml を ng/ml に換算した。酵素活性の上昇は 6 例 (4.9%) に認められた。一方、11例 (9.0%) では酵素活性は感度以下であった。同一患者における DNase I 量 (免疫活性) と DNase I 活性 (酵素活性) を比較検討したが、両者の間に明らかな相関を認めなかった。癌患者の酵素活性/免疫活性値は健常者の酵素活性/免疫活性値より低く、癌患者においては血中の inhibitor が増加している可能性が示唆された。

(総括)

- ヒト DNase I を測定するための RIA 系を確立した。この RIA 系は精度、再現性、回収率においてほぼ満足すべきものであった。
- DNase I の inhibitor として知られる G-actin の添加により DNase I の免疫活性は全く阻害されなかったが、酵素活性は約70%阻害された。
- 血中 immunoreactive DNase I は腎不全、急性脾炎において高値を示したが、他の非癌患者では正常であった。
- 各種癌患者における血中 DNase I は免疫活性では約32%に高値を示した。一方、酵素活性では4.9%しか上昇していなかった。また11例 (9.0%) では酵素活性は感度以下であった。同一癌患者における血中 DNase I の免疫活性と酵素活性の測定では、酵素活性がはるかに低値をとり、癌患者における血中の inhibitor の増加によることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

本研究は、血中のヒト deoxyribonuclease I (DNase I) を蛋白量として測定する radioimmunoassay 系を初めて確立したものである。そして、癌患者の血中 DNase I が従来の酵素活性の低下という

報告とは逆に、DNase I 蛋白量としては増加していることを明らかにした。この結果は、癌患者においては血中に DNase I の阻害物質が増加している可能性を示している。癌患者における DNase I およびその阻害物質の動態を明らかにするための重要な手法を開発したもので、医学博士の学位を授与するに値するものと思われる。